

⑬ 日本国特許庁(JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平1-143832

⑮ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑯ 公開 平成1年(1989)6月6日

A 61 K 31/22  
31/255  
31/56  
// C 07 C 69/03  
143/68

ADU

7330-4C  
7330-4C  
7375-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑰ 発明の名称 制癌剤

⑱ 特 願 昭62-301580

⑲ 出 願 昭62(1987)12月1日

⑳ 発 明 者	山 口	寛 子	埼玉県新座市東北2丁目32番3-903
㉑ 発 明 者	杉 本	正 信	埼玉県志木市館2丁目3番4-702
㉒ 発 明 者	浅 野	薫	埼玉県朝霞市本町1丁目21番22 ロマネスク・リラ304号
㉓ 発 明 者	村 上	孝 夫	東京都府中市本町2-24-12
㉔ 発 明 者	田 中	信 壽	東京都大田区大森北3-29-3
㉕ 出 願 人	東亜燃料工業株式会社		東京都千代田区一ツ橋1丁目1番1号
㉖ 出 願 人	村 上	孝 夫	東京都府中市本町2-24-12
㉗ 出 願 人	田 中	信 壽	東京都大田区大森北3-29-3
㉘ 代 理 人	弁理士 青 木	朗	外4名

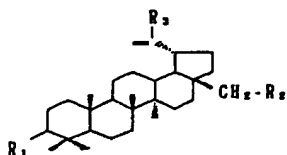
明 細 書

1. 発明の名称

制癌剤

2. 特許請求の範囲

1. 次の一般式:



(式中、R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>はそれぞれ独立にヒドロキシル基、炭素原子数18個以下のアシル基、又はp-トルエンスルホニルオキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>はメチル基又はハロ-メチル基であるが、R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>は同時にヒドロキシル基ではない)で表わされる化合物を有効成分として含有する制癌剤。

2. R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>がアセトキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>がメチル基である化合物を含有する特許請求の範囲第1項に記載の制癌剤。

3. R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>がn-ブチルオキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>がメチル基である化合物を含有する特許請求の範囲第1項に記載の制癌剤。

4. R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>がステアロイルオキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>がメチル基である化合物を含有する特許請求の範囲第1項に記載の制癌剤。

5. R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>がベンゾイルオキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>がメチル基である化合物を含有する特許請求の範囲第1項に記載の制癌剤。

6. R<sub>1</sub>、及びR<sub>2</sub>がアセトキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>がブロムメチル基である化合物を含有する特許請求の範囲第1項に記載の制癌剤。

7. R<sub>1</sub>がヒドロキシル基であり、R<sub>2</sub>がp-トルエンスルホニルオキシ基であり、そしてR<sub>3</sub>がメチル基である化合物を含有する特許請求の範囲第1項に記載の制癌剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は植物由来の5環系化合物ベツリンの誘導体を有効成分とする制癌剤に関する。

## 〔従来の技術〕

ベツリン (betulin) はシラカバの樹皮に比較的多量に含有される5環系化合物であり、北欧で多量に生産されている。ベツリンは、抗炎症作用及びある種の抗ウイルス作用を有することが報告されており (Antiviral Research 4 (1984), 231-243)、さらに抗腫瘍作用を有することが知られている

(J. Pharmaceutical Science 62(1) (1973), 139-140; 日本薬学会第107年会、1987年4月)。

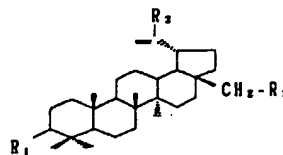
ベツリンは極めて毒性が低く、多量投与が可能であるが、抗腫瘍効果は必ずしも十分ではなく、現在では化粧品等の基剤などに実用化されているに過ぎない。

## 〔発明が解決しようとする問題点〕

従って、本発明はベツリンが有する毒性が極めて低いという利点と、一層高い抗腫瘍性を併せ持つベツリンの誘導体を含んで成る制癌剤を提供使用とするものである。

## 〔問題点を解決するための手段〕

前記の目的は、次の一般式：



(式中、 $R_1$  及び  $R_2$  はそれぞれ独立にヒドロキシル基、炭素原子数18個以下のアシル基、又は  $p$ -トルエンスルホンオキシ基であり、そして  $R_3$  はメチル基又はハロメチル基であるが、 $R_1$  及び  $R_2$  は同時にヒドロキシル基ではない) で表わされる化合物を有効成分として含有する制癌剤を提供することにより達成される。

## 〔具体的な説明〕

ベツリン (betulin) は前記一般式において  $R_1$  及び  $R_2$  がヒドロキシル基であり、 $R_3$  がメチル基である天然5環系化合物である。本発明者等は、ベツリンの種々の誘導体を合成し、それらの化合

物と制癌効果との関連を検討した結果、前記一般式において  $R_1$  (3位) のヒドロキシル基又は  $R_2$  (28位) のヒドロキシル基、あるいはこの両者を炭素原子数18個以下の脂肪酸のアシル基、ベンゾイルオキシ基、又は  $p$ -トルエンスルホンオキシ基により置換した化合物、及び  $R_3$  (29位) の炭素原子がハロゲン原子を有する化合物がベツリンより高い制癌活性を示し、さらに  $R_1$  が  $p$ -トルエンスルホンオキシ基である化合物及び29位の炭素がハロゲン原子を有する化合物がベツリンより長い制癌作用の持続性を有するという全く新しい知見を得た。

$R_1$  及び  $R_2$  の脂肪酸のアシルオキシ基としては、例えばセチトキシ基、 $n$ -プロパノイルオキシ基、イソプロパノイルオキシ基、 $n$ -ブチロイルオキシ基、イソブチロイルオキシ基、ペンタノイルオキシ基類、ヘキサノイルオキシ基類、ヘプタノイルオキシ基類、ラウロイルオキシ基、ミリスチロイルオキシ基、パルミトイルオキシ基、ステアロイルオキシ基等が挙げられる。

具体的な化合物として例えば次のものが挙げられる。

$R_1$  及び  $R_2$  がアセトキシ基であり、そして  $R_3$  がメチル基である化合物 (3,28-ジ-アセトキシルブ-20(29)-エン) または (化合物L-220 と称する) ；

$R_1$  及び  $R_2$  が  $n$ -ブチルオキシ基であり、そして  $R_3$  がメチル基である化合物 (3,28-ジ- $n$ -ブチルオキシルブ-20(29)-エン) または (化合物L-330 と称する) ；

$R_1$  及び  $R_2$  がステアロイルオキシ基であり、そして  $R_3$  がメチル基である化合物 (3,28-ジステアロイルオキシルブ-20(29)-エン) または (化合物L-440 と称する) ；

$R_1$  及び  $R_2$  がベンゾイルオキシ基であり、そして  $R_3$  がメチル基である化合物 (3,28-ジベンゾイルオキシルブ-20(29)-エン) または (化合物L-550 と称する) ；

$R_1$  及び  $R_2$  がアセトキシ基であり、そして  $R_3$  がブロムメチル基である化合物 (3,28-ジ-アセト

キシ-29-プロモルブ-20(29)-エン) または (化合物22BRと称する) ;

R<sub>1</sub> がヒドロキシル基であり、R<sub>2</sub> がp-トルエンスルホニルオキシ基であり、そしてR<sub>3</sub> がメチル基である化合物 (3-ヒドロキシ-28-p-トルエンスルホニルオキシルブ-20(29)-エン) または (化合物L-ITS0と称する) 。

上記の化合物は既知化合物であり下記の文献に記載されている。

(化合物L-220)

"Chemical Investigation of Ougeinia Dalbergioides Benth.", A.C.Ghosh and N.L.Dutta, J.Indian Chem.Soc., 42, 831~835(1965)

(化合物L-330)

Elseviers Encyclopaedia of Organic Chemistry, Series III, Vol.14, Suppl., Elseviers Publishing Company, London 1952, 1133 S

(化合物L-440)

"Fatty acid esters from betulino!", V.Erea, P.Jaaskelainen and K.Ukkonen, J.Amer.Oil

Chem.Soc., 58, 20-23(1981)

(化合物L-550)

"Chemical Investigation of Ougeinia Dalbergioides Benth.", A.C.Ghosh and N.L.Dutta, J.Indian Chem.Soc., 42, 831~835(1965)

(化合物22BR)

"2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -Dihydroxy Triterpenes. II. Attempted partial synthesis of methyl dihydroaliphitolate."

L.R.Row, C.S.Rao and T.S.Ramiah, Indian J. Chem., 6, 16-19(1968)

(化合物L-ITS0)

"Studies on the Constituents of Artemisia argyi LEVL. et VANT." A.Lao, Y.Fujimoto and T. Tatsuno, Chem.Pharm.Bull., 32, 723-727(1984)

本発明の制癌剤の制癌作用を次の様にして確認した。

#### 実験1.

6週令の雌性ICRマウスの腋皮下に10<sup>6</sup>個/マウスのSarcoma180細胞を移植し、7匹を1群として移植後1~5日目と7~11日目に1日

1回(合計10回)1.0~0.1mg/kg/回の被検化合物を、生理食塩水にて0.2mg/マウスの容量となるように調製して、腹腔内投与した。マウスのガンのサイズを計測し、その長径×短径(mm<sup>2</sup>)を求め、7匹の平均値をガンのサイズとした。被検化合物としてベツリン、L-220を用い、生理食塩水投与群を対照とした結果を第1図に示す。ベツリンの-3,-28位側鎖をアセチル基で置換したL-220がベツリンに比べ高い制ガン効果をもっていることがわかる。

#### 実験2.

実験1.と同じ手法で、被検化合物として、前記一般式中R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>が水素原子でR<sub>3</sub>がメチル基であるルベン、ベツリン及びL-220を用いた結果を、第1表に示す。ルベンのガンサイズを100%としたときの7,11,23日後のガンの比がルベン、ベツリン、L-220の順に小さくなっていることから、-3および-28位のアセチル化が制ガン効果を増強するといえる。この結果を第1表に示す。

第1表

被検化合物	投与量 mg/kg×回数	腫瘍サイズ					
		7日後		11日後		23日後	
		mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%
ルベン	1.0×10	35	100	82	100	250	100
ベツリン	1.0×10	29	83	50	61	130	52
L-220	1.0×10	30	86	43	52	101	40
	0.1×10	25	71	43	52	98	39

実験1.の場合と同様に、L-220化合物はベツリンに比べて高い腫瘍抑制効果を示した。

#### 実験3.

実験1.と同じ手法で被検化合物として、ベツリン、L-330、L-440、L-550、L-22BRを用いて実験を行なった結果を第2表に示す。このことから-3,-28位の同族置換体さらにその-29位を臭素化した化合物がL-220と同様、制ガン効果増強に有効であることがわかった。

第 2 表

被 検 化合物	投与量 mg/kg × 回数	腫瘍サイズ			
		7 日		11 日 (投与最終日)	
		mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%
ベツリン	1.0 × 10	31.9	100	81.4	100
L-330	1.0 × 10	21.0	66	56.4	69
L-440	1.0 × 10	34.1	104	52.4	64
L-550	1.0 × 10	27.0	85	62.4	77
L-22BR	1.0 × 10	24.7	77	73.0	90

## 実験 4.

6週令の雌性ICRマウス(1グループ3匹、  
対照グループは4匹)に、10<sup>7</sup>個/mlのsarcoma  
180の懸濁液と生理食塩水中被検化合物の懸濁液  
との等量混合物0.2ml/マウスを皮下移植し腫  
瘍に対する増殖抑制効果をしらべた。

被検化合物として、ベツリン、L-220、L-ITSO  
を用い、対照に生理食塩水をおいて実験を行った  
結果を第3表に示す。

第 3 表

被検物質及び投与量	腫瘍サイズ			
	7 日		11 日	
	mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%
対照(生理食塩水)	37	100	101	100
ベツリン 0.5 mg/kg	35	94.5	61	60
L-220 0.5 mg/kg	25	67.5	67	66
L-ITSO 0.5 mg/kg	24	65	43	42.5

L-220及びL-ITSOはいずれも7日目においてベ  
ツリンより高い腫瘍増殖抑制作用を示し、L-ITSO  
は11日目においてもなお高い腫瘍増殖抑制作用  
を示した。

実験1～4の結果より、L-220、L-330、L-440、  
L-550、L-22BRおよびL-ITSOなどのベツリンへの  
置換基導入が制ガン効果増強に有効であることが  
わかった。

## 実験 5.

実験1と同様の実験を、投与終了(11日後)  
以後の腫瘍サイズを、ベツリン、L-220、L-ITSO

0.1 × 10 mg/kg投与について行なった結果を第  
4表に示す。

第 4 表

被 検 化合物	投与量 mg/kg × 回数	腫瘍サイズ			
		16日後		23日後	
		mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%
対照	(食塩水)	115	100	220.4	100
ベツリン	0.1 × 10	91.3	79	209.1	95
L-220	0.1 × 10	73.7	64	171.9	78
L-ITSO	0.1 × 10	82.1	72.7	137.1	62

化合物L-ITSOは、ベツリンに比べて高い腫瘍抑  
制活性を示すのみならず、長い持続制を有する。

## 実験 6.

実験4.と同様な実験を行った。但し、腫瘍細胞  
の移植及び被検化合物の接種後16日目、22日  
目及び32日目に化合物L-22BRの腫瘍増殖抑制効  
果を対照(生理食塩水)及びベツリンのそれと比  
較した。この結果を次の第5表に示す。

第 5 表

被検化合物及び投与量	腫瘍サイズ					
	16		22		32	
	mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%	mm <sup>2</sup>	%
対照(生理食塩水)	105	100	219	100	416	100
ベツリン 0.5 mg/kg	106	100	135	62	—	—
L-22BR 0.5 mg/kg	46	44	102	47	257	62

第5表から明らかなごとく、化合物L-22BRはベ  
ツリンに比べて高い腫瘍増殖抑制作用を示すのみ  
ならず、その作用を長期間にわたって維持した。

実験5.および6.からL-ITSO、L-22BRには投与終  
了後の制ガン作用を持続させる効果があるといえ  
る。

以上の結果から明らかなごとく、本発明の化合  
物はインビボ試験において制癌効果を有する。本  
発明の化合物は、制癌剤としてヒトを包含する哺  
乳類に投与することができる。経口投与又は非経  
口投与により投与され、非経口投与の場合には、  
静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与等により行わ

れる。

本発明の制癌剤は、活性成分として10mg～100mg/回をおよそ1日ごとに投与するか、あるいは約30mg/回を3～7日ごとに投与するのが好ましい。投与方法は点滴又は静脈注射が好ましいが、油脂基剤と混合して皮膚に塗布し、経皮的に投与することもできる。

本発明の制癌剤の有効成分は極めて毒性が低く、1日に500mg/kg経口投与した場合でも、ほとんど毒性を示さない。

本発明の制癌剤は、前記の活性成分のいずれかを用いて、常用の製剤法に従って製造することができる。例えば生理的食塩水、リン酸緩衝液等に単位投与量の活性成分を懸濁してアンプルに充填することができる。また、本発明の活性成分を油性基剤と混合することにより、塗布剤や坐薬とすることもできる。また、常用の賦型剤と共に錠剤、カプセル剤等の経口投与剤とすることもできる。本発明の活性成分は活性成分として単独で投与することもでき、また他の活性成分、例えば他の抗

癌剤、抗菌剤、感冒薬等と組合わせて使用することができる。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は実験1における化合物L-220の制癌効果を示すグラフである。

#### 特許出願人

東亜燃料工業株式会社

村 上 孝 夫

田 中 信 壽

#### 特許出願代理人

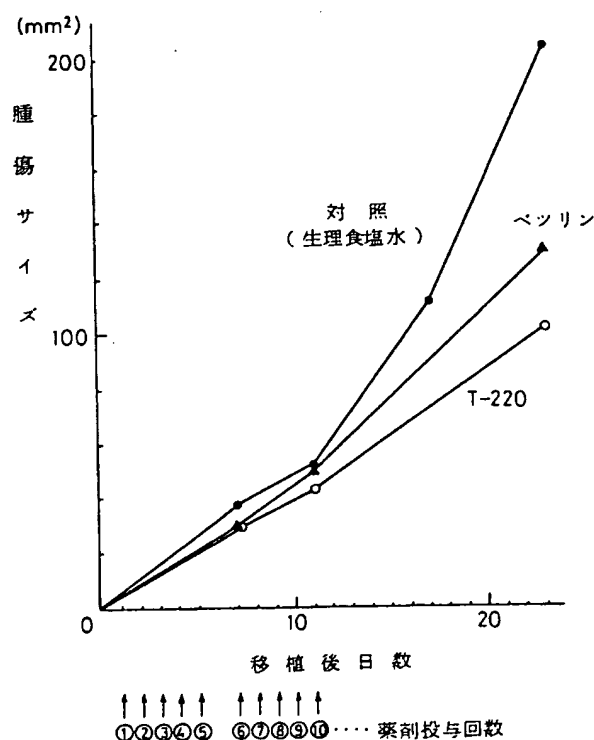
弁理士 青 木 朗

弁理士 石 田 敬

弁理士 福 本 積

弁理士 山 口 昭 之

弁理士 西 山 雅 也



第 1 図